

文章编号: 1000-0615(2017)01-0031-09

DOI: 10.11964/jfc.20160410345

棘头梅童鱼七个野生群体遗传多样性的微卫星分析

宋 炜¹, 孟永永^{1,2}, 蒋科技¹, 赵 明¹,
任桂静¹, 张凤英¹, 马凌波^{1*}

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为研究中国沿海地区棘头梅童鱼群体的遗传多样性, 利用微卫星标记技术, 采用9对微卫星引物对中国连云港(LYG)、大丰(DF)、崇明(CM)、舟山(ZS)、温州(WZ)、宁德(ND)、厦门(XM)棘头梅童鱼7个野生群体的遗传多样性和遗传结构进行了分析。结果显示, 实验检测到63个等位基因, 各位点等位基因数为3~13个, 有效等位基因数为1.7510~8.0317; 各位点的观测杂合度(H_o)为0.3596~0.7854, 期望杂合度(H_e)为0.4300~0.8780; 多态信息含量(PIC)为0.3604~0.8631, 其中有2个位点表现为中度多态($0.25 < PIC < 0.5$), 7个位点表现为高度多态($PIC > 0.5$), 具有较丰富的遗传多样性水平。Hardy-Weinber平衡分析显示, 7个群体的大部分位点未偏离平衡。基于群体间Nei氏标准遗传距离构建的7个野生群体UPGMA系统进化树结果显示, ND和WZ群体遗传关系最近, ZS和WZ群体遗传关系最远, WZ和ND聚为一支, 但总体上没有显著的遗传分化。

关键词: 棘头梅童鱼; 野生群体; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus* Richardson)属鲈形目(Perciformes), 石首鱼科(Sciaenidae), 梅童鱼属(*Collichthys*), 是我国近海常见的底栖小型经济鱼类, 主要分布在黄海和东海, 以东海产量最大, 终年可以捕获, 盛期为5—7月的繁殖季节, 在长江口其历史产量曾达每年200 t^[1-4]。棘头梅童鱼为短距离洄游的浅海鱼类, 喜栖息在河口咸淡水交汇处, 生长速度快, 适温、适盐范围广, 肉质细嫩而鲜美, 为沿海居民喜食的高档水产品之一, 具有较高的经济价值^[5-8]。

微卫星(microsatellites)即简单序列重复(simple sequence repeats, SSR), 是指广泛分布于真核生物基因组中, 由1~6个核苷酸为单位的一类简单串联重复序列^[9]。由于微卫星DNA具有丰富多态性、遵循孟德尔遗传定律、引物具有通用性、共显性遗传、结果稳定可靠、基因组中含

量丰富且随机分布等特点, 在种群遗传分化研究、亲子鉴定、基因连锁分析、遗传图谱构建、遗传多样性保护、进化及生态学研究等领域得到了广泛应用^[10-11]。在海洋鱼类及水产养殖研究领域, 微卫星标记的开发及其在分子标记辅助育种方面的应用也日趋广泛^[12-14]。本实验利用微卫星标记技术, 深入研究棘头梅童鱼不同地理群体的遗传结构, 遗传变异来源, 以期为合理保护和利用棘头梅童鱼资源提供可靠的理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

棘头梅童鱼样品为2013年9—11月采集于江苏连云港(LYG)、江苏大丰(DF)、上海崇明

收稿日期: 2016-04-07 修回日期: 2016-07-06

资助项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(东2015M08); 科技基础性工作专项子课题(2013FY110700); 公益性行业(农业)科研专项子课题(201303047)

通信作者: 马凌波, E-mail: malingbo@vip.sina.com

(CM)、浙江舟山(ZS)、浙江温州(WZ)、福建宁德(ND)、福建厦门(XM)的7个野生群体(图1)。采集地点、采样时间及样品数量见表1。各群体个体体质量分布在10.5~33.1 g, 雌雄分布均匀。样品采集后于95%乙醇中保存, 运回实验室即取样提取DNA于-20 °C保存备用。

1.2 基因组DNA的提取

取背部肌肉约100 mg, 使用海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司, 北京)提取总DNA。

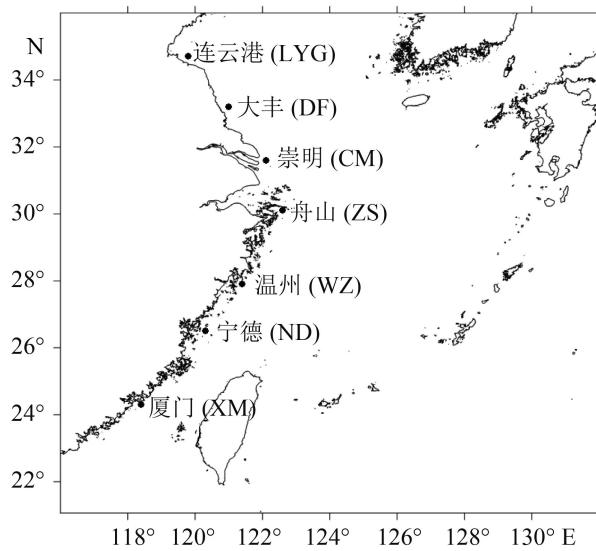


图1 棘头梅童鱼采样地点示意图

Fig. 1 Sampling sites of *C. lucidus*

LYG: Lianyungang; DF: Dafeng; CM: Chongming; ZS: Zhoushan; WZ: Wenzhou; ND: Ningde; XM: Xiamen

表1 棘头梅童鱼的采集样品数

Tab. 1 The number of *C. lucidus* in each location

群体 population	样品数量/尾 number	取样地点 location	取样时间 sampling time
连云港 LYG	30	江苏连云港	2013-10
大丰 DF	30	江苏大丰	2013-11
崇明 CM	30	上海崇明	2013-09
舟山 ZS	28	浙江舟山	2013-09
温州 WZ	29	浙江温州	2013-11
宁德 ND	32	福建宁德	2013-10
厦门 XM	30	福建厦门	2013-11

1.3 微卫星扩增

所用引物为本实验室^[7]和Sun等^[15]开发的棘头梅童鱼微卫星引物(表2), 由上海杰李生物技术有限公司合成。PCR反应体系为12.5 μL, 内含10×PCR Buffer (Mg²⁺ plus) 1.3 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 1 μL, *rTaq* DNA聚合酶(5 U/μL) 0.2 μL, 上下游引物(10 μmol/L)各0.5 μL, 模板DNA 0.5 μL, 加双蒸水至总体积为12.5 μL。PCR反应程序为94 °C预变性5 min; 94 °C变性30 s, 退火50 s (温度见表2), 72 °C延伸50 s, 35个循环; 最后72 °C充分延伸7 min。扩增产物采用6%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测(图2)。

1.4 数据统计及分析

将微卫星标记电泳图谱中的每一条DNA带作为该基因座上的一个等位基因, 确定个体基

表2 九对微卫星引物及其退火温度

Tab. 2 Nine pairs of microsatellite marker sequence and annealing temperature

位点 locus	重复片段 repeat motif	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/°C annealing temperature	片段大小/bp allele size	引物来源 source of primers
CL2 (HQ843049)	(TCTG) ₄	F: GGAGAGGTGAGTCCTGCTTGAAGA R: TACCCCCCTCTCCAGTGATTTA	58	257~268	[7]
CL3 (HQ843050)	(TG) ₅	F: ACAGACTCTTTTCACAGTGTTTG R: CTCATTTTTTTTACAACCTTCAG	48	124~134	[7]
CL10 (HQ843057)	(TG) ₆	F: AAGGGTGTATGGTGAAGGGAGGG R: GAAAGACCCGACTCGTGACCG	57	261~276	[7]
CL13 (HQ843060)	(CAT) ₆ ·(ATC) ₅	F: TGAGGAGCAACAAAACAATAAAA R: TTACTTCACTCCGAGGCAAATAC	52	165~176	[7]
CL15 (HQ843062)	(GGAT) ₁₀	F: GCTTAATGCGAGAATAGAAATGC R: CCAAAAAGTCCACTGTCACTT	54	163~175	[7]
CL17 (HQ843064)	(AGGA) ₅ ·(AC) ₁₂	F: TAAAGGGGAAAAGTGCAGAAATTGG R: ATGAGGGTGGCGGTGGCAAT	55	244~266	[7]
CL18 (HQ843065)	(AAC) ₄	F: TACTTGGTCAAAACTACAATAAAT R: CAGAAGATAAGAGATGGCACAC	50	229~241	[7]
CL23 (GW670618)	(CCT) ₅	F: TCATCAGAACCAGCCTCT R: CACATCCTTTACCTCTATCT	54	226~238	[15]
CL27 (JF502239)	(CA) ₁₀	F: AGCCGTGAAGTTGATGAC R: ATCCTGACATGTGAGACTAG	52	222~234	[15]

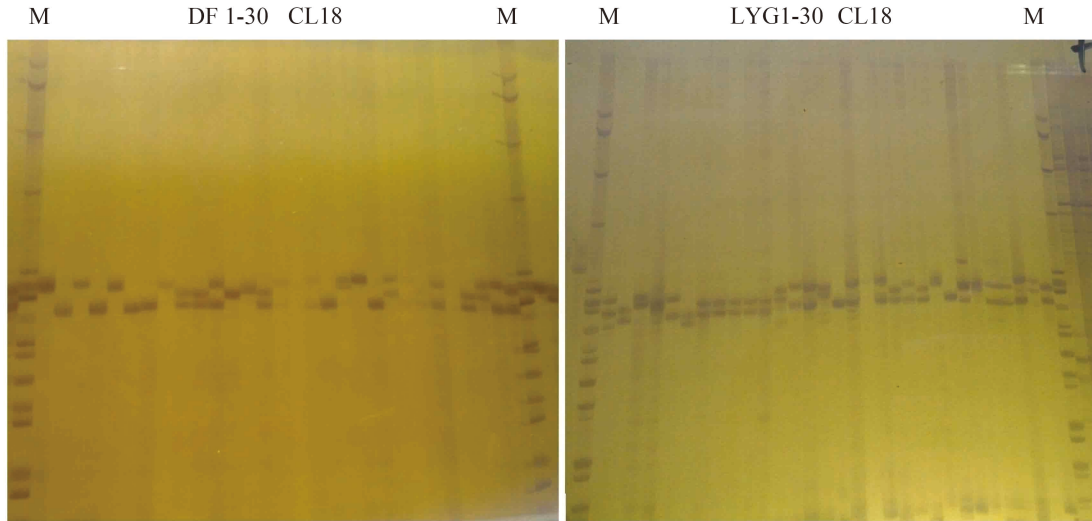


图 2 部分微卫星聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

“M”表示Marker, “LYG1-30, DF1-30”分别表示连云港、大丰群体的1-30个体, “CL18”表示位点18

Fig. 2 Part of SSR polyacrylamide gel electrophoretogram of seven *C. lucidus* populations

“M” means Marker. LYG: Lianyungang; DF: Dafeng; “CL18”: locus 18

因型。用Popgene 1.32进行数据统计分析, 计算7个群体各微卫星位点的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、遗传相似系数(I)、群体间遗传距离(D_s)和Hardy-Weinberg遗传偏离指数(D)等。用PIC-Calc软件计算多态信息含量(PIC)。在MEGA 5.1软件中基于Nei氏遗传距离构建UPMGA进化树。利用Arlequin 3.1软件中的AMOVA方法分析7个群体的遗传变异, 计算遗传分化系数 F_{ST} 来评价两两群体间的遗传差异, 通过1000次重复抽样来检验两两群体间 F_{ST} 的显著性, 使用 $N_m=(1-F_{ST})/(4F_{ST})$ 计算两两群体间的基因流。

2 结果

2.1 群体遗传多样性分析

9对微卫星引物在7个野生群体中共检测到63个等位基因, 多数集中在100~300 bp。各位点等位基因数为3~13个, 平均每个座位上的等位基因数为7个, 各位点均表现出多态性。CL10位点 N_a 、 N_e 等最低; CL17在群体中扩增到的等位基因数最多, 为13个, 有效等位基因数为8.0317, 期望杂合度及多态信息含量均最高(表3)。各个群体平均 H_o 和 H_e 分别为0.5626~0.7006和0.5462~0.6680(表4)。

表 3 九个微卫星位点在七个棘头梅童鱼群体中的遗传信息

Tab. 3 The genetic information of nine microsatellites in seven populations of *C. lucidus*

位点 locus	等位基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息 含量 PIC
CL2	7	4.9816	0.6537	0.8012	0.7687
CL3	7	4.6591	0.5473	0.7873	0.7563
CL10	3	1.7510	0.3596	0.4300	0.3604
CL13	6	3.3329	0.6507	0.7016	0.6495
CL15	10	6.9733	0.7833	0.8587	0.8404
CL17	13	8.0317	0.6686	0.8780	0.8631
CL18	6	3.9929	0.5931	0.7514	0.7077
CL23	4	2.0530	0.5320	0.5142	0.4045
CL27	7	4.4107	0.7854	0.7752	0.7416

2.2 Hardy-Weinberg平衡分析

利用Popgen软件计算, 经Hardy-Weinberg平衡的卡方检验发现, 在7个群体9个多态微卫星位点的63个组合中大部分未偏离平衡状态($P>0.05$)。LYG和ND群体有4个位点偏离平衡, CM群体有2个位点偏离平衡, DF、ZS和WZ群体有1个位点偏离平衡($P<0.05$) (表3)。

表 4 七个棘头梅童鱼群体在9个位点的遗传信息

Tab. 4 The genetic information of seven populations of *C. lucidus* of nine loci

群体 population	指标 index	位点 locus									平均值 average
		CL2	CL3	CL10	CL13	CL15	CL17	CL18	CL23	CL27	
LYG	N_a	5	4	3	4	10	7	5	2	4	4.89
	N_e	3.0769	2.1717	2.1759	2.9364	4.6512	5.2562	3.5857	1.9912	2.9801	3.2028
	H_o	0.7000	0.4286	0.7931	0.6000	0.8667	0.5172	0.9000	0.5333	0.9667	0.7006
	H_c	0.6864	0.5494	0.5499	0.6706	0.7983	0.8240	0.7333	0.5062	0.6757	0.6660
	P	0.1034	0.0369	0.0336	0.6576	0.5569	0.0000	0.5230	0.7653	0.0002	
DF	N_a	6	7	3	3	6	7	4	2	5	4.78
	N_e	3.5714	3.7966	2.1978	1.8349	3.5363	4.2056	3.2599	1.9382	2.8080	3.0165
	H_o	0.6667	0.5714	0.4000	0.6000	0.8333	0.7000	0.5714	0.6071	0.6897	0.6266
	H_c	0.7322	0.7500	0.5542	0.4627	0.7294	0.7751	0.7058	0.4929	0.6552	0.6508
	P	0.7038	0.0062	0.2850	0.3329	0.9540	0.1110	0.5273	0.2109	0.3953	
CM	N_a	3	4	3	4	10	11	4	2	5	5.11
	N_e	2.5181	3.7461	1.8740	2.0999	4.6391	6.8774	2.9950	1.8899	2.7481	3.2653
	H_o	0.4815	0.5172	0.3704	0.5862	0.7500	0.7407	0.6000	0.4828	0.7667	0.5884
	H_c	0.6143	0.7459	0.4752	0.5330	0.7987	0.8707	0.6774	0.4791	0.6469	0.6490
	P	0.2680	0.0055	0.3739	0.9689	0.0000	0.2479	0.3739	0.9668	0.0760	
ZS	N_a	3	7	3	6	10	13	6	3	5	6.22
	N_e	2.1703	4.3575	1.8349	2.7314	5.9858	9.6667	4.0825	2.0740	2.0285	3.8813
	H_o	0.3793	0.6552	0.3667	0.7667	0.8276	0.8276	0.7586	0.6667	0.6071	0.6506
	H_c	0.5487	0.7840	0.4627	0.6446	0.8475	0.9123	0.7683	0.5276	0.5162	0.6680
	P	0.0014	0.0007	0.3329	0.7487	0.6713	0.3199	0.4669	0.3558	0.2478	
WZ	N_a	7	4	3	3	5	7	4	2	7	4.67
	N_e	4.6875	1.9846	1.2237	2.1403	3.0361	3.0981	2.1161	1.9459	5.7692	2.8891
	H_o	0.7000	0.6000	0.1667	0.4667	0.7586	0.7000	0.5357	0.4333	0.8333	0.5771
	H_c	0.8000	0.5045	0.1859	0.5418	0.6824	0.6887	0.5370	0.4944	0.8407	0.5861
	P	0.3500	0.3595	0.0114	0.3151	0.9031	0.1670	0.3669	0.4913	0.5500	
ND	N_a	5	4	3	3	7	9	4	3	6	4.89
	N_e	4.4263	2.8939	1.3029	2.8526	3.2941	7.3469	1.8565	2.3591	3.7344	3.3408
	H_o	0.7586	0.6333	0.1852	0.9333	0.6786	0.5333	0.4138	0.5333	0.8333	0.6114
	H_c	0.7877	0.6655	0.2369	0.6605	0.7091	0.8785	0.4694	0.5859	0.7446	0.6376
	P	0.0757	0.2833	0.0000	0.0004	0.0988	0.0000	0.1845	0.7807	0.0251	
XM	N_a	5	5	3	3	5	5	4	4	5	4.25
	N_e	3.8217	1.9034	1.2649	1.9846	3.0252	3.0367	1.8967	2.0999	3.4462	2.4303
	H_o	0.8667	0.4074	0.2333	0.6000	0.7586	0.7856	0.3667	0.4828	0.7857	0.5626
	H_c	0.7508	0.4836	0.2130	0.5045	0.6812	0.6518	0.4808	0.5330	0.7227	0.5462
	P	0.2764	0.3532	0.9314	0.4207	0.2545	0.3597	0.1020	0.6225	0.1380	

2.3 群体间的遗传分化分析

利用Popgen 1.32软件得到了7个群体间的Nei氏遗传距离 D_s 和遗传相似系数 I (表5)。ZS和WZ群体间的遗传距离最大, 遗传相似系数最小; WZ和ND群体间的遗传距离最小, 遗传相似系数最大。7个群体间的遗传相似系数为0.5675~0.8281。根据Nei氏遗传距离采用UPMGA法对7个群体进行聚类分析, WZ和ND先聚为一支, 之后与LYG、CM和XM聚为一支, 最后与DF和ZS聚为一大支(图3)。

AMOVA分析表明, 7个群体间的两两遗传分化系数 F_{ST} 介于0.079 33~0.237 34(表6), 群体间的遗传分化达到了显著性水平($P<0.01$)。其中, LYG和CM群体间的 F_{ST} 最小(0.079 33), DF和XM群体间的 F_{ST} 最大(0.237 34)。群体内和群体间的遗传变异分析表明: 在总遗传变异中, 群

表 5 棘头梅童鱼七个群体间的Nei氏遗传相似系数(上三角)和遗传距离(下三角)

Tab. 5 The Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between seven populations of *C. lucidus*

群体 population	LYG	DF	CM	ZS	WZ	ND	XM
LYG	-	0.6141	0.7918	0.6999	0.6411	0.6987	0.7240
DF	0.4876	-	0.6623	0.6599	0.7233	0.6416	0.6329
CM	0.2334	0.4120	-	0.7749	0.7084	0.7319	0.7773
ZS	0.3568	0.4157	0.2550	-	0.5675	0.6400	0.6346
WZ	0.4446	0.3239	0.3447	0.5665	-	0.8281	0.7411
ND	0.3586	0.4439	0.3122	0.4462	0.1886	-	0.7273
XM	0.3229	0.4575	0.2520	0.4547	0.2996	0.3184	-

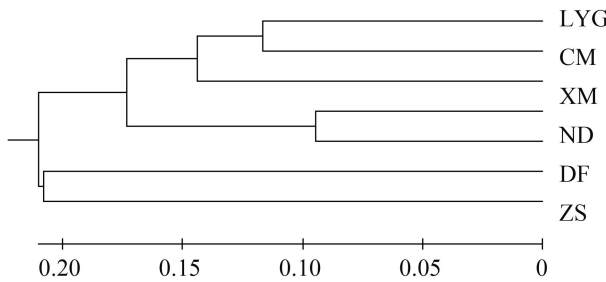


图 3 基于Nei氏遗传距离构建的七个棘头梅童鱼群体的UPMGA聚类树图

Fig. 3 A UPGMA dendrogram of seven *C. lucidus* populations based on Nei's genetic distance

表 6 七个棘头梅童鱼群体的遗传分化指数

Tab. 6 Genetic differentiation indices between seven populations of *C. lucidus*

群体 population	LYG	DF	CM	ZS	WZ	ND	XM
LYG	-						
DF	0.150 71	-					
CM	0.079 33	0.136 78	-				
ZS	0.112 08	0.134 93	0.087 11	-			
WZ	0.162 64	0.132 33	0.137 47	0.189 81	-		
ND	0.119 32	0.146 84	0.108 05	0.140 21	0.086 86	-	
XM	0.196 04	0.237 34	0.166 27	0.224 75	0.213 73	0.204 75*	-

注: “*”表示差异显著($P<0.05$), P 为遗传分化指数显著性检验值
Notes: “*” means extremely significant difference ($P<0.05$). P means value for test of F_{ST} . LYG: Lianyungang; DF: Dafeng; CM: Chongming; ZS: Zhoushan; WZ: Wenzhou; ND: Ningde; XM: Xiamen

表 7 七个棘头梅童鱼群体的AMOVA分析

Tab. 7 Analysis on molecular variance (AMOVA) of seven populations of *C. lucidus*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组分 variance components	变异百分比/% percentage variation
群体间 among populations	6	201.431	0.511 58Va	15.10
群体内 within populations	413	1188.100	2.876 76Vb	84.90
合计 total	419	1389.531	3.388 34	

体间的遗传变异占15.10%, 而群体内的遗传变异占84.90%(表7)。

3 讨论

遗传多样性是指地球上所有生物所携带遗传信息的总和, 是生物多样性的重要组成部分。遗传多样性是物种适应复杂多变的环境、维持生存和进化的基础。一个物种的遗传变异越大, 其进化潜力就越大, 对环境变化的适应能力也就越大^[16-18]。对棘头梅童鱼的研究多集中在资源评估、进化分析及人工繁殖等方面, 在遗传多样性及遗传分化等方面的研究仅郑德锋等^[19]、赵明等^[20]、林能锋等^[21]、殷丽娜^[12]和Song等^[22]分别采用AFLP、线粒体 $CO I$ 、线粒体控制区、微卫星等为标记对中国沿海棘头梅童鱼群体遗传多样性进行了报道。

微卫星位点的多态性可以用多态信息含量(PIC)来衡量,通常多态信息含量能反映某个群体遗传变异程度、位点多样性等,根据Botstein等^[23]提出的划分标准:当 $PIC > 0.5$ 时,该位点为高度多态;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,该位点为中度多态;当 $PIC < 0.25$ 时,该位点为低度多态。本研究中,7个群体中9个微卫星位点,其多态信息含量PIC为0.3604~0.8631。CL10和CL23位点的 $0.25 < PIC < 0.5$,为中度多态,其余位点均为 $PIC > 0.5$,为高度多态,高度多态位点占比77.8%。

基因杂合度(H)是指群体中某个位点上杂合子的频率,反映群体的遗传变异程度,是衡量群体遗传变异的最适参数^[24-25]。相对较高的突变率同时可以导致微卫星位点多态信息含量(PIC)较高^[26]。因此,H和PIC都能反映群体内个体遗传变异程度,数值越高说明遗传变异越大,反之遗传变异越小。在本研究中,棘头梅童鱼7个群体的平均观测杂合度(H_o)分别为0.7006、0.6266、0.5884、0.6506、0.5771、0.6114、0.5626,平均期望杂合度(H_e)分别为0.6660、0.6508、0.6490、0.6680、0.5861、0.6376、0.5462,7个群体的杂合度都比较高,具有较高的遗传多样性水平。该结果与林能锋等^[21]、殷丽娜^[12]认为棘头梅童鱼具有中等遗传多样性水平的结果有一定差别。出现该差异性的原因可能与所运用的微卫星位点不同、群体分布、样本总数量等有关。

Hardy-Weinberg遗传偏离指数D主要反映 H_o 和 H_e 之间的平衡关系,D值越接近0,基因型的分布就越接近于平衡状态,D值大于0说明存在杂合子过剩,D值小于0说明存在杂合子缺失现象。杂合子过剩现象一般出现在研究对象为亲本有限的相对小或封闭的群体产生奠基者效应(founder effect)或瓶颈效应(bottleneck effect)从而导致连锁不平衡的现象。杂合子缺失现象可能是由于研究对象数量有限、近亲杂交或人为干扰等因素导致稀有碱基缺失所致^[27]。由Hardy-Weinberg平衡定律可知,如果没有选择、突变和迁移等情况的发生,一个大的随机交配群体内,等位基因频率和基因型频率随世代的增加而保持不变。本研究中9个多态微卫星位点在梅童鱼7个群体中均没有偏离哈温平衡,说明7个群体受到外来因素干扰较小,群体遗传结构尚处于比较稳定状态中。

遗传距离是衡量群体间遗传关系的指标。遗传距离越小,说明两群体间亲缘关系越近;反之,亲缘关系越远。在本研究中,WZ和ND群体间的遗传距离最小(0.1886),遗传相似系数最大(0.8281),亲缘关系最近。ZS和WZ群体间的遗传距离最大(0.5665),遗传相似系数最小(0.5675),亲缘关系最远。基于Nei氏遗传距离采用UPMGA法对7个群体进行聚类分析结果显示,WZ和ND先聚为一支,之后与LYG、CM和XM聚为一支,最后与DF和ZS聚为一大支。不同于郑德锋等^[28]和赵明等^[20]运用线粒体基因对棘头梅童鱼群体遗传结构的研究,本研究结果没有显示出明显的南北分化格局。棘头梅童鱼核基因研究结果与线粒体南北两大群的研究结果不一致。在其他海洋鱼类中,也在线粒体与核基因遗传标记研究结果不一致的现象。Gonzales等^[29]基于两种分子标记得到沙丁鱼(*Sardina pilchardus*)两种不一致的群体遗传结构,并认为这两种分子标记结果可能反映沙丁鱼不同时期的进化情况,并相互补充完整。任桂静^[30]利用核基因微卫星标记分析玉筋鱼(*Ammodytes personatus*)的群体遗传结构与韩志强^[31]线粒体控制区的分析结果相悖。由于线粒体DNA母系遗传,有效群体数量是核基因的1/4,更易受到选择压力影响,在检测由于近期事件产生的遗传结构和小地理范围内群体间的基因交流方面并不敏感,而核基因微卫星标记具有可检测位点数量多、进化快、多态信息含量高以及呈孟德尔式和共显性遗传等优点,可以检测到种内微弱的遗传分化^[32]。本研究与殷丽娜^[12]采用微卫星标记得到的结果也不同,可能与所运用的微卫星标记位点、群体分布、样本总数量差异等有关。

遗传分化指数 F_{ST} 是目前应用最广泛的一个衡量群体间遗传分化程度的指标。当 $F_{ST} < 0.05$ 时,说明群体间的遗传分化较弱;当 $0.05 < F_{ST} < 0.15$ 时,群体属于中等程度的遗传分化;当 $0.15 < F_{ST} < 0.25$ 时,群体间存在较大的遗传分化; $F_{ST} > 0.25$ 时,说明群体间分化极大^[33]。本研究中7个群体的遗传分化指数在0.079 33~0.237 34($0.05 < F_{ST} < 0.25$),说明棘头梅童鱼群体间存在中等程度的遗传分化。AMOVA分析结果表明,遗传变异主要来源于群体内个体之间(84.90%),来源于群体间的变异为15.10%。

棘头梅童鱼具有生长快、性成熟早、生命

周期短、繁殖力强的特点,自20世纪60年代以来,随着小黄鱼(*Larimichthys ployactis*)、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)等主要敌害鱼类和饵料竞争对象资源的枯竭,使棘头梅童鱼获得了充分的繁殖与生长,资源数量明显上升^[2]。由于其产量高和肉质鲜美等特点,受到沿海居民的广泛喜爱。本研究结果表明,棘头梅童鱼群体具有较高的遗传多样性水平,群体受到外来因素干扰较小,群体资源尚处于比较稳定状态中。在种群结构上,中国沿海群体有一定程度的遗传分化,但没有显著地改变遗传结构($F_{ST}=0.079\ 33\sim 0.237\ 34$)。本研究将为棘头梅童鱼人工繁育、良种选育提供理论依据。

参考文献:

- [1] 单乐州,邵鑫斌,闫茂仓.棘头梅童鱼幼鱼生物学特性的初步观察[J].水产养殖,2007,28(6):4-5.
Shen Y Z, Shao X B, Yan M C. The study on biological characteristics of *Collichthy lueidus* (Richardson)[J]. Journal of Aquaculture, 2007, 28(6): 4-5(in Chinese).
- [2] 吴常文,王伟宏.浙江近海棘头梅童鱼的分布生物学与资源变动[J].海洋渔业,1991,(1):6-10.
Wu C W, Wang W H. The biology distribution and resources changes of *Collichthy lueidus* in Zhejiang offshore[J]. Marine Fisheries, 1991, (1): 6-10(in Chinese).
- [3] 何宝全,李辉权.珠江河口棘头梅童鱼的资源评估[J].水产学报,1988,12(2):125-134.
He B Q, Li H Q. Stock assessment of *Collichthys lucidus* in pearl river estuary[J]. Journal of Fisheries of China, 1988, 12(2): 125-134.
- [4] 贺舟挺,张亚洲,薛利建,等.东海北部近海棘头梅童鱼食物组成的季节变化及随发育的变化[J].海洋渔业,2012,34(3):270-276.
He Z T, Zhang Y Z, Xue L J, et al. Seasonal and ontogenetic diet composition variation of *Collichthys lucidus* in inshore waters in the north of East China Sea[J]. Marine Fisheries, 2012, 34(3): 270-276(in Chinese).
- [5] 黄良敏,李军,谢仰杰,等.闽江口及其附近海域棘头梅童鱼资源的研究[J].台湾海峡,2010,29(2):250-256.
Huang L M, Li J, Xie Y J, et al. Study of the *Collichthys lucidus* fisheries resources of the Minjiang Estuary and its adjacent waters[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2010, 29(2): 250-256(in Chinese).
- [6] 林浩然.海洋鱼类资源的可持续利用和海洋鱼类科学技术的研究方向[J].中国工程科学,2003,5(3):27-30,43.
Lin H R. The Sustainable Exploitation of Marine Fish Resources and the Research Directions of Science and Technology for Marine Fish[J]. Engineering Science, 2003, 5(3): 27-30, 43(in Chinese).
- [7] Ma C Y, Ma H Y, Ma L B, et al. Development and characterization of 19 microsatellite markers for *Collichthys lucidus*[J]. Conservation Genetics Resources, 2011, 3(3): 503-506.
- [8] 单乐州,邵鑫斌,谢起浪,等.棘头梅童鱼人工繁殖及育苗技术研究[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2006,25(3):266-271.
Shan Y Z, Shao X B, Xie Q L, et al. Studies on the Technique of Artificial Propagation and Larva Nursery of *Collichthy lueidus*[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2006, 25(3): 266-271(in Chinese).
- [9] Litt M, Luty J A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. American Journal of Human Genetics, 1989,44(3):397-401.
- [10] 李琪.海洋贝类微卫星DNA标记的开发及其在遗传学研究中的应用[J].中国水产科学,2006,13(3):502-509.
Li Q. Development of microsatellite DNA markers and their applications in genetic studies in marine mollusks[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(3): 502-509(in Chinese).
- [11] 孙悦娜,冯建彬,李家乐.微卫星标记技术在虾类分子遗传学研究中的应用[J].海洋渔业,2006,28(2):167-172.
Sun Y N, Feng J B, Li J L. Application of the microsatellite technique in shrimp molecular genetics study[J]. Marine Fisheries, 2006, 28(2): 167-172(in Chinese).
- [12] 殷丽娜.棘头梅童鱼的遗传多样性与种群遗传结构研究[D].青岛:中国海洋大学,2013.
Yin L N. Study on genetic diversity and population structure of *Collichthys lucidus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [13] 崔海玉,马洪雨,马春艳,等.利用微卫星标记比较分析拟穴青蟹不同家系的遗传多样性[J].海洋渔业,

- 2011, 33(3): 274-281.
- Cui H Y, Ma H Y, Ma C Y, *et al.* Genetic diversity among different families of mud crab *Scylla paramamosain* by microsatellite markers[J]. Marine Fisheries, 2011, 33(3): 274-281(in Chinese).
- [14] 林小云. 拟穴青蟹微卫星分子标记的发育及其群体遗传结构研究[D]. 集美: 集美大学, 2010.
- Lin X Y. Development of the microsatellite and genetic structure of *Scylla paramamosain* population[D]. Jimei: Jimei University, 2010(in Chinese).
- [15] Sun D Q, Zhang B, Xu T J, *et al.* Fourteen polymorphic microsatellite markers isolated from big-head croaker (*Collichthys lucidus*)[J]. Journal of Genetics, 2011, e79-e81.
- [16] O'Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1997, 7(3): 331-363.
- [17] 张文静, 余育和, 沈韞芬. 微卫星DNA遗传分析在原生动动物学中的研究进展[J]. 水生生物学报, 2003, 27(2): 185-190.
- Zhang W J, Yu Y H, Shen Y F. Advances on genetic analysis of microsatellite DNA in protozoology[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(2): 185-190(in Chinese).
- [18] 崔蕾, 谢从新, 李艳和, 等. 斑点叉尾鮰4个群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(6): 744-751.
- Cui L, Xie C X, Li Y H, *et al.* Analysis of genetic diversity among four different channel catfish populations by using microsatellite markers[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2012, 31(6): 744-751.
- [19] 郑德锋, 赵金良, 周文玉, 等. 我国沿海棘头梅童鱼群体遗传结构的AFLP分析[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(3): 443-447.
- Zheng D F, Zhao J L, Zhou W Y, *et al.* Genetic structure of *Collichthys lucidus* populations from China coastal areas by AFLP analysis[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2011, 42(3): 443-447(in Chinese).
- [20] 赵明, 宋炜, 马春艳, 等. 基于线粒体CO I 基因序列的棘头梅童鱼7个野生群体遗传结构分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(2): 233-242.
- Zhao M, Song W, Ma C Y, *et al.* Population genetic structure of *Collichthys lucidus* based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequence[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(2): 233-242(in Chinese).
- [21] 林能锋, 苏永全, 丁少雄, 等. 舟山近海棘头梅童鱼群体遗传多样性微卫星DNA分析[J]. 台湾海峡, 2011, 30(2): 229-233.
- Lin N F, Su Y Q, Ding S X, *et al.* Genetic diversity assessed using microsatellite DNA of spiny head croaker (*Collichthys lucidus*) from the Zhoushan offshore waters[J]. Journal of Oceanography In Taiwan Strait, 2011, 30(2): 229-233(in Chinese).
- [22] Song N, Ma G, Zhang X, *et al.* Genetic structure and historical demography of *Collichthys lucidus* inferred from mtDNA sequence analysis[J]. Environmental Biology of Fishes, 2013, 97(1): 69-77.
- [23] Botstein D, White RL, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [24] Shikano T, Taniguchi N. Relationships between genetic variation measured by microsatellite DNA markers and a fitness-related trait in the guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. Aquaculture, 2002, 209(1): 77-90.
- [25] 肖调义, 张学文, 章怀云, 等. 洞庭湖四种黄颡鱼基因组DNA遗传多样性的RAPD分析[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(3): 84-89.
- Xiao T Y, Zhang X W, Zhang H Y, *et al.* RAPD analysis of genetic diversity on genomic DNA among 4 species of pelteobagrus of Dongting Lake[J]. China Biotechnology, 2004, 24(3): 84-89(in Chinese).
- [26] Gyapay G, Morissette J, Vignal A, *et al.* The 1993-94 genethon human genetic-linkage map[J]. Nature genetics, 1994, 7(2): 246-339.
- [27] Antoro S, Na-Nakorn U, Koedprang W. Study of genetic diversity of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, from Thailand and Indonesia using microsatellite markers[J]. Mar Biotechnol (NY), 2006, 8(1): 17-26.
- [28] 郑德锋, 赵金良, 周文玉. 棘头梅童鱼线粒体控制区的序列变异与群体遗传结构[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(2): 34-40.
- Zhao D F, Zhao J L, Zhou W Y. mtDNA control region sequence variation and genetic structure of *Collichthys lucidus* populations[J]. Progress in Fishery Sciences,

- 2011, 32(2): 34-40(in Chinese).
- [29] Gonzalez E G, Zardoya R. Relative role of life-history traits and historical factors in shaping genetic population structure of sardines (*Sardina pilchardus*)[J]. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7(1): 1-12.
- [30] 任桂静. 玉筋鱼和松江鲈微卫星标记的开发及群体遗传学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Ren G J. Development of microsatellite DNA markers and population genetics for sand lance (*Ammodytes personatus*) and roughskin sculpin (*Trachidermus fasciatus*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012(in Chinese).
- [31] 韩志强. 三种海洋鱼类分子系统地理学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学. 2008.
- Han Z Q. Molecular Phylogeography of Three Marine Fishes[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008(in Chinese).
- [32] Machado-Schiaffino G, Garcia-Vazquez E. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Merluccius australis* and cross-species amplification[J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9(2): 585-587.
- [33] Hartl D L. Principles of population genetics[M]. Sinauer Associates, 1997.

Analysis of genetic diversity among seven wild *Collichthys lucidus* populations by using microsatellite marker

SONG Wei¹, MENG Yongyong^{1,2}, JIANG Keji¹, ZHAO Ming¹,
REN Guijing¹, ZHANG Fengying¹, MA Lingbo^{1*}

(1. Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to study the genetic diversity of *Collichthys lucidus* of Chinese coastal areas, microsatellite markers were used to analyze genetic diversity of seven wild *C. lucidus* populations (Lianyungang, Dafeng, Chongming, Zhoushan, Wenzhou, Ningde, Xiamen). The results showed that the number of total alleles was 63 in the seven populations by nine microsatellite loci, and the mean number of alleles of every locus was 3 to 13. The average effect alleles ranged from 1.7510 to 8.0317. The average observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.3596 to 0.7854, and the average expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.4300 to 0.8780, and the average polymorphic information content (PIC) ranged from 0.3604–0.8631. Among them, 2 loci showed moderate polymorphic, 7 loci showed highly polymorphic. This showed that seven populations had high levels of genetic diversity. Most loci did not deviate from Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). The UPGMA phylogenetic tree of the seven populations was constructed based on Nei's genetic distance. The result showed that the relationship between WZ and ND was the closest while the relationship between ZS and WZ was the farthest, WZ and ND clustered into one group, while there was no significant genetic differentiation as a whole.

Key words: *Collichthys lucidus*; wild populations; microsatellites; genetic diversity

Corresponding author: MA Lingbo. E-mail: malingbo@vip.sina.com

Funding projects: The Basic Research Fund for State-Level Nonprofit Research Institutes of East China Sea Fishery Research Institute (ECSFRI) and the Chinese Academic of Fishery Science (CAFS) (Dong 2015M08); The National Basic Research Special Foundation of China (2013FY110700); Special Fund for Agroscientific Research in the Public Interest (201303047)